

Aus dem Institut für medizinische Mikrobiologie der  
Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

Untersuchungen zu Morphologie, Vermehrung  
und Beweglichkeit von Mycoplasma gallisepticum

Inauguraldissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin  
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz,  
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Tina ERDMANN geb. Liauw  
aus Palembang/Indonesien

Mainz 1976



Digitized by the Internet Archive  
in 2026

[https://archive.org/details/IA41554418\\_0011](https://archive.org/details/IA41554418_0011)

Aus dem Institut für medizinische Mikrobiologie der  
Johannes-Gutenberg-Universität Mainz

Untersuchungen zu Morphologie, Vermehrung  
und Beweglichkeit von Mycoplasma gallisepticum

Inauguraldissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin  
der Johannes-Gutenberg-Universität Mainz,  
den Medizinischen Fachbereichen

vorgelegt von

Tina ERDMANN geb. Liauw  
aus Palembang/Indonesien

Mainz 1976



Fachbereichsdekan: Professor Dr.P.KLEIN

Referent: Professor Dr.W.BREDT

Korreferent: Professor Dr.R.RINGELMANN

## Inhaltsverzeichnis

Untersuchungen zu Morphologie, Vermehrung und  
Beweglichkeit von Mycoplasma-gallisepticum

|                                                                     | Seite |
|---------------------------------------------------------------------|-------|
| Zusammenfassung                                                     | 1     |
| 1. Einleitung                                                       | 3     |
| 1.1. Allgemeines Wissen über Mycoplasmen                            | 3     |
| 1.2. Untersuchungen zur Ultrastruktur von<br><u>M.gallisepticum</u> | 4     |
| 1.3. Vermehrung von <u>M.gallisepticum</u>                          | 5     |
| 1.4. Beweglichkeit von Mycoplasmen                                  | 6     |
| 1.5. Problemstellung                                                | 6     |
| 2. Material und Methoden                                            | 7     |
| 2.1. Mycoplasmen                                                    | 7     |
| 2.2. Nährböden                                                      | 8     |
| 2.3. Hefeextrakt                                                    | 9     |
| 2.4. Deckglaskammer                                                 | 9     |
| 2.5. Beimpfung der Deckglaskammer                                   | 9     |
| 2.6. Transfer der bewachsenen Deckgläser                            | 10    |
| 2.7. Mikroskopische Beobachtung und Photographie                    | 10    |
| 2.8. Cinematographische Aufnahmen                                   | 10    |
| 2.9. Statistische Methoden                                          | 11    |
| 3. Ergebnisse                                                       | 12    |
| 3.1. Allgemeine Entwicklung der Kultur                              | 12    |
| 3.2. Allgemeine Morphologie der <u>M.gallisepticum</u> - Zellen     | 12    |
| 3.3. Vermehrungsvorgänge                                            | 13    |
| 3.4. Bewegungsvorgänge                                              | 13    |
| 3.4.a. Allgemeine Beobachtungen                                     | 13    |
| 3.4.b. Bewegung bei veränderten Wachstumsbedingungen                | 15    |

|                                                                                                                                                                                               | Seite     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Abb. 1: Vermehrung von <u>M.gallisepticum</u> in flüssigem Medium                                                                                                                             | vor S. 17 |
| Abb. 2: Zellen von <u>M.gallisepticum</u> am Glas der Beobachtungskammer                                                                                                                      | vor S. 17 |
| Abb. 3: Beobachtung einer <u>M.gallisepticum</u> - Zelle über 6:36 Stunden                                                                                                                    | vor S. 17 |
| Abb. 4: Beispiel für den Weg einer <u>M.gallisepticum</u> - Zelle                                                                                                                             | vor S. 17 |
| Abb. 5: Bewegungsverhalten von 4 <u>M.gallisepticum</u> - Zellen unter Normalbedingungen                                                                                                      | vor S. 17 |
| Abb. 6: Beziehungen zwischen korrigierter Durchschnittsgeschwindigkeit und Dauer der Vorbrütung                                                                                               | vor S. 17 |
| Abb. 7: Korrigierte Durchschnittsgeschwindigkeit unter verschiedenen Versuchsbedingungen                                                                                                      | vor S. 17 |
| Tab. 1 - 4: Gesamte Meßdaten aller untersuchten <u>M.gallisepticum</u> - Zellen. Tab. 1: Normalbedingungen<br>Tab. 2: Glucosezusatz    Tab. 3: Temperaturversuche<br>Tab. 4: $p_H$ - Versuche | vor S. 17 |
| 4. Diskussion                                                                                                                                                                                 | 17        |
| 4.1. Morphologie                                                                                                                                                                              | 17        |
| 4.2. Vermehrung                                                                                                                                                                               | 17        |
| 4.3. Bewegung                                                                                                                                                                                 | 18        |
| Danksagung                                                                                                                                                                                    | 21        |
| Literatur                                                                                                                                                                                     | 22        |
| Lebenslauf                                                                                                                                                                                    | 26        |

## Zusammenfassung

Nach den bisherigen Untersuchungen wurden bei 3 *Mycoplasma*-Arten (*M.pneumoniae*, *M.pulmonis* und *M.gallisepticum*) gleitende Bewegungen an Glasoberflächen beobachtet. Alle drei Arten besitzen eine spezielle Spitzenstruktur, die mit ihrer Fähigkeit zur Haftung und Bewegung an einer Glasoberfläche in Zusammenhang gebracht wird. Sie sind als pathogene Keime für Erkrankungen des Respirationstraktes beim Menschen und verschiedenen Tierspezies verantwortlich.

Während bei *M.pulmonis* und besonders bei *M.pneumoniae* schon Berichte über die Beobachtung lebender Zellen vorlagen, war dies bei *M.gallisepticum* nicht der Fall. Diese Spezies wurde dagegen elektronenmikroskopisch sehr gründlich untersucht. In der vorliegenden Arbeit sollten Morphologie, Vermehrung und das Bewegungsverhalten lebender Zellen von *M.gallisepticum* untersucht werden. Dabei sollte auch die Wirkung verschiedener äußerer Einflüsse auf das Bewegungsverhalten geprüft werden.

Die eigenen Ergebnisse stimmen hinsichtlich Morphologie und Vermehrung mit den Berichten der Literatur überein. Die Zellen zeigten eine typische Birnen- oder Tropfenform mit deutlicher Spitzenstruktur. Die Vermehrung erfolgte durch Zweiteilung.

Das Bewegungsverhalten von *M.gallisepticum* wurde in dieser Arbeit zum ersten Mal näher untersucht. Die Zellen vollführten an der Glasoberfläche ungerichtete gleitende Bewegungen in Richtung ihrer Spitzen-

struktur, die in ungleichmäßigen Abständen durch unterschiedlich lange Ruhepausen unterbrochen wurden. Die korrigierte Durchschnittsgeschwindigkeit lag bei  $2,5 \mu\text{m}/\text{min}$ . Damit war M.gallisepticum deutlich langsamer als M.pneumoniae. Bei Glucosezusatz zum Medium zeigten die Zellen eine Verminderung der korrigierten Durchschnittsgeschwindigkeit sowie eine Zunahme des Ruhequotienten.

## 1. Einleitung

### 1.1. Allgemeines Wissen über Mycoplasmen

Die meisten *Mycoplasma* - Arten besitzen eine relativ gleichartige Zellform. Meist finden sich kokkoide Zellen, Ring- bzw. Scheibenformen, kurze und längere Fäden sowie segmentierte Strukturen (FREUNDT 1969, BREDT 1970a, MANILOFF and MOROWITZ 1972). Diese Vielfalt wird ermöglicht durch das Fehlen einer starren Zellwand. Die vorhandene Zellmembran ist flexibel und erlaubt die Ausprägung derartig unterschiedlicher Zellformen.

Bei drei *Mycoplasma* - Arten konnten bisher licht- und elektronenmikroskopisch Abweichungen von diesen üblichen Formen festgestellt werden: *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma gallisepticum* und *Mycoplasma pulmonis* zeigen eine besondere Gliederung ihrer Zellen (MANILOFF and MOROWITZ 1972, BREDT 1973). Sie besitzen spezielle Spitzenstrukturen und sind in der Lage, sich damit an festen Oberflächen gleitend fortzubewegen (BREDT 1973, 1974). Alle drei Spezies sind Erreger von Erkrankungen des Respirationstraktes. *M. pneumoniae* ruft beim Menschen eine primär atypische Pneumonie hervor (HAYFLICK and CHANOCK 1965b), *M.gallisepticum* ist für Erkrankungen des Respirationstraktes bei Hühnern und Truthühnern verantwortlich (SHARP 1970). *M.pulmonis* verursacht vor allem bei Nagern (Ratten, Mäusen) respiratorische Infekte und besitzt daher erhebliche Bedeutung in der Versuchstierzucht (SHARP 1970). Die

Kenntnisse über die Biologie dieser drei *Mycoplasma* - Arten sind unterschiedlich. Bei *M.pneumoniae* liegen umfangreiche Daten über Antigenstruktur und Pathogenität vor. Die Beweglichkeit ist bei diesem Keim am besten studiert worden (BREDT 1973, 1974). Ultrastrukturelle Details wurden dagegen erst in letzter Zeit näher untersucht (BIBERFELD and BIBERFELD 1970). Bei *M.pulmonis* sind kaum brauchbare ultrastrukturelle Details bekannt, die Beweglichkeit ist wenig untersucht, da die Zellen nach wenigen Passagen in künstlichen Nährböden unbeweglich werden (NELSON and LYONS 1965). Über *M.gallisepticum* liegen sehr gründliche elektronenmikroskopische und zytologische Untersuchungen vor (MANILOFF and MOROWITZ 1972), die ein recht gutes Bild der Substrukturen und des möglichen Vermehrungsmodus ergeben. Auch die biochemischen Eigenschaften dieser *Mycoplasma* - Art sind teilweise gut untersucht. Keine oder nur unzureichende Daten existieren bisher über die Beobachtung lebender Zellen von *M.gallisepticum*.

#### 1.2. Untersuchungen zur Ultrastruktur von *M.gallisepticum*

Es existieren umfangreiche Daten über die Ultrastruktur von *M.gallisepticum*. Die von MANILOFF et al. (1965) durchgeführten Untersuchungen über *M.gallisepticum* Stamm A5669 ergaben für diese Mycoplasmen eine typische Struktur:

Die tropfen- oder birnenförmige Zelle ist  $0,15 - 0,3 \mu\text{m}$  breit und  $1,0 - 1,25 \mu\text{m}$  lang. Eine Membran von  $110 \text{ \AA}$  Dicke umschließt die

Zelle. Diese Membran besteht aus einer inneren  $50 \text{ \AA}$  messenden optisch dünneren Schicht und zwei äußeren ca.  $30 \text{ \AA}$  dicken optisch dichteren Schichten. Sie enthält 50 - 59% Protein, 32 - 40% Lipide, 0,5 - 2% Kohlenhydrate, 2 - 5 % Ribonucleinsäure (RNS) und 1% Desoxyribonucleinsäure (DNS) (RAZIN et al. 1967, RAZIN 1969). RNS und DNS werden als Bestandteile des Zytoplasmas angesehen. Zahlreiche Enzymaktivitäten und Transportmechanismen wurden in der Zellmembran lokalisiert (MANILOFF and MOROWITZ 1972). Das Zentrum der Zelle enthält etwa  $30 \text{ \AA}$  dickes fibrilläres Material. Dieses Material wurde als DNS identifiziert. Zwischen diesem Genom und der Zellmembran befinden sich zahlreiche aus RNS bestehende  $140 \text{ \AA}$  große Zellorganellen, die als Ribosomen erkannt wurden (MANILOFF et al. 1965).

Eine besondere Struktur der Zelle befindet sich an der Spitze und wird als "Bleb" bezeichnet (MANILOFF et al. 1965). Diese Spitzenstruktur ist halbkugelig geformt und ca.  $800 \text{ \AA}$  mal  $1250 \text{ \AA}$  groß. An der Basis des Bleb setzt sich die Zelle mit der sogenannten "Infrableb - Region" fort, einer ringförmigen flachen Platte von  $2000 \text{ \AA}$  Durchmesser. An der Innenseite der Zellmembran wurde im Bereich von Bleb und Infrableb elektronenoptisch Adenosin - Triphosphatase gefunden (MUNKRES und WACHTEL 1967). Saure Phosphatase wurde dagegen nur in der Infrableb - Region festgestellt.

### 1.3. Vermehrung von *M.gallisepticum*

Über die Zellteilung der *M.gallisepticum* liegen bisher hauptsächlich

elektronenmikroskopische Serien - Beobachtungen von (MANILOFF and MOROWITZ 1972). Zunächst wurden tropfenförmige Zellen mit einer typischen Spitzenstruktur gesehen. Dann verlängerte sich die Zelle und eine zweite Spitzenstruktur wurde auf der gegenüberliegenden Seite ausgebildet. Während dieses Vorganges verlängerten sich die DNS - Fibrillen und teilten sich. Anschließend erfolgte eine zunehmende Abschnürung und Zweiteilung der Zelle. Ein solcher Teilungszyklus dauerte etwa 140 Minuten (MANILOFF and MOROWITZ 1967).

#### 1.4. Beweglichkeit von Mycoplasmen

Bei lichtmikroskopischen Untersuchungen berichteten ANDREWES und WELCH (1946), NELSON (1960) sowie NELSON und LYONS (1965) über Bewegungen von M.pulmonis an einer Glasoberfläche. BREDT (1968b, 1972) beobachtete die Bewegung bei zwei anderen Arten: M.pneumoniae und M.gallisepticum. Während von M.pneumoniae bereits Daten über die Beweglichkeit vorliegen (BREDT et al. 1970b, BREDT 1973), existieren bei M.gallisepticum keine weiteren Angaben.

#### 1.5. Problemstellung

Ziel dieser Arbeit sollte es sein, durch Beobachtung lebender Zellen von M.gallisepticum weitere Daten über die Morphologie lebender Zellen, die Vermehrung und vor allem über die Beweglichkeit dieser Mycoplasma - Art zu gewinnen.

## 2. Material und Methoden

### 2.1. Mycoplasmen

Die vorliegenden Untersuchungen wurden vorwiegend mit M.gallisepticum Stamm PG 31 durchgeführt. In einigen Ansätzen für morphologische Studien wurden auch drei weitere Stämme (S6 208 Adler, 1200/67 und 2471/73) verwendet <sup>1</sup>.

Zur Gewinnung eines gleichbleibenden Inoculums wurden 100 ml des flüssigen Mediums (s.u.) mit M.gallisepticum beimpft und bei 37° C bebrütet. Bei beginnendem Farbumschlag nach Orange (ca. 48 h) wurde die Kultur in 1 ml - Portionen in Plastikgefäße (Eppendorf) abgefüllt und bei - 70° C eingefroren.

Nach 24 Stunden wurde 1 ml dieses Inoculums zur Bestimmung der Keimzahl entnommen und aufgetaut. Hiervon wurde eine Verdünnungsreihe in 10er - Stufen angelegt. Als Verdünnungsflüssigkeit diente PPLO - Broth (s.u.) mit 1 %igem inaktivierten Pferdeserum. Von jeder Verdünnungsstufe wurden 3 x 10 µl auf Agarmedium gegeben. Nach einer Bebrütungsdauer von 2 Tagen bei 37° C wurden anhand der Koloniezahlen die im Inoculum enthaltenen koloniebildenden Einheiten pro ml (kbE/ml) berechnet.

---

1) Für die Überlassung dieser Stämme möchten wir an dieser Stelle Frau Dr.H.GERLACH, Institut für die Krankheiten des Haus- und Wildgeflügels, vielmals danken.

## 2.2. Nährböden

Die Nährböden wurden entsprechend der Beschreibung von HAYFLICK (1965a) hergestellt. Sie setzten sich zusammen aus:

- 70% PPLO - Broth bzw. PPLO - Agar (Difco Laboratories)
- 20% Pferdeserum (Flow Laboratories) oder Agamma-Pferdeserum (Microbiological Associates)
- 10% Hefeextrakt (25%ig, Herstellung s.u.)

Das fertige Medium hatte ein  $p_H$  von etwa 7,2 - 7,5. Dem Nährboden wurden bei Bedarf Penicillin (1000 E/ml) und Thalliumacetat (0,05%) zugesetzt, um ein eventuelles Wachstum von Bakterien zu verhindern. Dem flüssigen Medium wurde außerdem Phenolrot (Endkonzentration 0,002%) als  $p_H$  - Indikator zugesetzt. Das flüssige Medium wurde bei  $-20^{\circ}\text{C}$  eingefroren. Von dem Agarmedium wurden je 5ml in Plastik - Petrischalen gegeben (60 x 15 mm, Greiner/Nürtingen). Die Agar - Platten wurden bis zu 2 Wochen bei  $+4^{\circ}\text{C}$  aufbewahrt.

Für die mikroskopischen Untersuchungen wurde dem flüssigen Medium Gelatine (Endkonzentration 3 oder 1%ig) zugesetzt. Die Gelatine wurde als 10%ige Stammlösung in PPLO - Broth angesetzt und jeweils erst beim Zusammenmischen des Mediums im entsprechenden Verhältnis zugegeben. Dieses Medium wurde jeweils vor Gebrauch filtriert ( $0,2\ \mu\text{m}$  - Membranfilter, Sartorius) und dann bei  $37^{\circ}\text{C}$  gehalten.

### 2.3. Hefeextrakt

Der benötigte Hefeextrakt wurde nach der Vorschrift von HAYFLICK (1965a) hergestellt. 250g Trockenhefe (Fleischmann's pure dry yeast, Type 2040) wurden in 1000ml Aqua dest. aufgekocht, die Lösung danach durch ein Faltenfilter gegeben, anschließend wurde der Extrakt auf  $p_H = 6$  eingestellt. Nach Absetzen der entstandenen Flockung wurde der klare Überstand in 100ml - Flaschen abgefüllt, für 15 Min. bei  $121^{\circ}\text{C}$  autoklaviert und bei  $-20^{\circ}\text{C}$  bis zur späteren Verwendung aufbewahrt.

### 2.4. Deckglaskammern

Für die mikroskopische Untersuchung wurden Deckglaskammern verwendet, die aus zwei Deckgläsern (  $22 \times 22 \text{ mm}$  und  $18 \times 18 \text{ mm}$  ) und einem dazwischenliegenden Glasring ( ca.  $10 \text{ mm}$  Durchmesser,  $3 - 4 \text{ mm}$  Höhe ) bestanden (BREDDT 1968a). Ring und Deckgläser wurden durch Silikonfett (Bayer, mittelviskös) zusammengehalten. Die Kammern wurden mit Heißluft ( $180^{\circ}\text{C}$ ) sterilisiert.

### 2.5. Beimpfung der Deckglaskammern

Aus einem aufgetauten Inoculum wurde Gelatine - Medium mit M.gallisepticum beimpft. Mit diesem beimpften Medium wurden jeweils zwei oder mehr Deckglaskammern gefüllt, verschlossen und bei  $37^{\circ}\text{C}$  für 10 bis 20 Stunden bebrütet.

## 2.6. Transfer der bewachsenen Deckgläser

Nach etwa 10 bis 20 Stunden wurden die Kammern mikroskopisch auf das Vorhandensein einer geeigneten Zelldichte geprüft. Die mit Mycoplasmen bewachsenen Deckgläser wurden dann abgehoben, durch vorsichtiges Absaugen von überflüssigem Medium befreit und auf neue Kammern aufgesetzt, die das Versuchs- oder Kontrollmedium enthielten. Den veränderten Versuchsbedingungen wurden die Mycoplasmen 2 Stunden lang ausgesetzt und anschließend erfolgten Beobachtung und Filmen unter dem Mikroskop.

## 2.7. Mikroskopische Beobachtung und Photographie

Morphologie und Vermehrung der Mycoplasmen wurden mit einem Photomikroskop (Zeiss) mit Phasenkontrasteinrichtung untersucht. Um die Haftung der Mycoplasmen an dem Deckglas zu verbessern, wurde ein leicht visköses Medium mit 3% Gelatinezusatz verwendet. Die Kammern wurden für 10 bis 12 Stunden bei  $37^{\circ}\text{C}$  vorbebrütet. Während der mikroskopischen Beobachtung wurde die Temperatur von Kammer und Objektiv mit einem thermostatgesteuerten Warmluftgebläse (Air Curtain Incubator - Sage Instruments) konstant bei  $37^{\circ}\text{C}$  gehalten. Die Aufnahmen erfolgten mit automatischer Belichtungsregelung auf Plus-X-Film (Kodak).

## 2.8. Cinematographische Aufnahmen

Mit der cinematographischen Methode wurden Einzelheiten der Bewe-

gungen der Mycoplasmen gemessen. Hierfür wurde 1%iges Gelatine - Medium benutzt. Die Beobachtung erfolgte nach ungefähr 12 Stunden Vorbebrütung bei  $37^{\circ}\text{C}$ . Die Filmaufnahmen wurden mit einer Einrichtung ausgeführt, die aus einem umgekehrten Mikroskop mit Phasenkontrast (Zeiss), einer 16 mm - Kamera (Bolex) mit Timer - Einrichtung (Wild) sowie einem Plexiglas-Heizkasten mit elektronischer Temperaturregelung (Hessische Feinmechanik, Gießen) bestand. Die Aufnahmen wurden hergestellt mit einem Objektiv mit 63-facher Vergrößerung, einem Interferenzfilter und einer Belichtungszeit von 1 Sekunde und einer Bildfrequenz von 4 Bildern pro Minute. Als Film wurde Kodak Plus-X Umkehrfilm verwendet. Die Auswertung der Filme erfolgte an einem Projektor mit Einzelbildschaltung. Einzelne Bilder wurden fortlaufend auf Papier projiziert. Die Zellen wurden dabei um den Faktor 5850 vergrößert. Die Spitzen der projizierten Zellen wurden mit Bleistift markiert, der Abstand zwischen 2 Punkten ergab dann den in 15 Sekunden zurückgelegten Weg. Unter Berücksichtigung der Vergrößerung wurden Weg in  $\mu\text{m}$ , die Geschwindigkeit mit und ohne Berücksichtigung der Ruhepausen in  $\mu\text{m}/\text{min}$  sowie der Ruhequotient (Zeiteinheiten in Ruhe durch Gesamtzahl der beobachteten Zeiteinheiten) ermittelt.

## 2.9. Statistische Methoden

Soweit ausreichende Daten zur Verfügung standen, wurden Geschwindigkeit oder Prozentsatz der Ruhepausen im Rangtest auf signifikante Unterschiede geprüft.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1. Allgemeine Entwicklung der Kultur

Zu Beginn des Versuches waren kaum Zellen am Glas der Deckglaskammer zu sehen. Nach 24 - 36 Stunden war die Glasfläche dicht bewachsen. Die Ergebnisse der Keimzählung sind in Abb. 1 dargestellt. In den ersten fünf Stunden nach Beimpfung erfolgte ein mäßiger Rückgang der Keimzahl. Danach begann eine zunächst langsame Zunahme, nach etwa 12 Stunden war der Ausgangswert wieder erreicht. Das Wachstum verlief stärker beschleunigt von der 16. bis zur 51. Stunde. Danach nahm die Wachstumsgeschwindigkeit ab und schließlich erfolgte eine Verminderung der Keimzahl. Nach 126 Stunden war mit  $1,3 \times 10^4$  kbE/ml der Ausgangswert ( $1,6 \times 10^5$  kbE/ml) deutlich unterschritten. Entsprechend diesen Ergebnissen wurden die weiteren Untersuchungen vorwiegend in der frühen logarithmischen Phase (10. - 20. Stunde) vorgenommen. Vergleichbare Zählungen konnten mit Gelatinemedium wegen der stärkeren Verklumpung nicht vorgenommen werden. Das Wachstumsverhalten war bei mikroskopischer Beobachtung jedoch in Medien mit und ohne Gelatine durchaus vergleichbar.

#### 3.2. Allgemeine Morphologie der *M.gallisepticum* - Zellen

Die Zellen zeigten meist eine birnenförmige oder tropfenförmige Gestalt, häufig war eine deutliche Spitzenstruktur erkennbar (Abb. 2a). In dem flüssigen Medium waren die Zellen mehr einzeln gelagert, das visköse

Gelatine - Medium förderte die Bildung von kolonieartigen Verklumpungen (Abb. 2b). Die Zellen lagen im Gesichtsfeld unregelmäßig verteilt. Das Auseinanderwandern der Zellen nach der Teilung war in viskösem Medium offensichtlich erschwert. In 3% - und 5% - igem Gelatine - Medium wurden nach 10 bis 20 Stunden Vorbebrütungszeit mehr Zellhaufen und nur wenige einzelne Zellen beobachtet. Abweichende Zellformen entstanden meist durch Teilungsvorgänge. Abgestorbene Zellen in älteren Kulturen erschienen meist abgerundet.

### 3.3. Vermehrungsvorgänge

Die kontinuierlich beobachteten Zellen wurden innerhalb von etwa 150 Minuten größer, verlängerten sich und bildeten später eine zweite Spitzenstruktur aus. Während der Teilungsphase zeigten die Zellen keine Bewegung. Die Separierung der Tochterzellen erfolgte offensichtlich durch Abschnürung. Nach der Teilung blieben die Zellen über kurze Zeit oft räumlich nahe zusammen, später wanderten sie auseinander. Ein typischer Teilungsverlauf ist in Abb. 3 dargestellt. Bei den im Bild gezeigten Zellen erfolgte während der Beobachtung keine endgültige Trennung.

### 3.4. Bewegungsvorgänge

#### 3.4.a. Allgemeine Beobachtungen

Die Zellen bewegten sich stets in der Richtung ihrer Zellspitzen (Spit-

zenstruktur, "Bleb"). Es erfolgten keine gerichteten Bewegungen, sondern die Zellen beschrieben kreisförmige oder irreguläre Bahnen (Abb. 4). Die Bewegungen wurden in ungleichmäßigen Abständen durch kürzere oder längere Ruhepausen unterbrochen. In Abb. 5 wurde das Bewegungsverhalten einiger Zellen unter Normalbedingungen aufgetragen. Alle Zellen wurden unter gleichen Versuchsbedingungen beobachtet. Die Ruheperioden der einzelnen Zellen hatten unterschiedliche Länge. Bei Zelle 1 wurden relativ wenige und nur kurzdauernde Ruheperioden beobachtet. Bei den Zellen 2 und 3 unterbrachen einzelne relativ lange Ruhepausen die Bewegungsphasen. Zelle 4 zeigte zahlreiche Ruhepausen unterschiedlicher Länge.

In den Tabellen 1 - 4 (Gesamte Meßdaten aller untersuchten M.gallisepticum-Zellen) wurden die Daten aller beobachteten Zellen zusammengefaßt: Angaben über Versuchsbedingungen, Beobachtungsdauer, gesamten zurückgelegten Weg, Durchschnittsgeschwindigkeit, korrigierte Durchschnittsgeschwindigkeit (nach Abzug der Ruhepausen), maximale und minimale Geschwindigkeit pro Zeiteinheit, Gesamtzeiten der Bewegung und Ruhe sowie der Prozentsatz der Ruhezeiten an der gesamten Beobachtungszeit.

Als besonders konstanter Wert erwies sich die korrigierte Durchschnittsgeschwindigkeit, in geringem Maße auch der Prozentsatz der Ruhezeiten. Die korrigierte Durchschnittsgeschwindigkeit betrug meist 2 - 3  $\mu\text{m}/\text{min}$ , der Anteil der Ruhezeiten schwankte im Mittel zwischen 30 - 70%. Die höchste beobachtete Geschwindigkeit für einen kurzen

Zeitabschnitt (15 sec) betrug  $8,89 \mu\text{m}/\text{min}$ . Bei unterschiedlich langer Vorbebrütung der Kultur zeigten alle Zellen mit 10 bis 20 Stunden Vorinkubation für die korrigierte Durchschnittsgeschwindigkeit Werte in dem genannten Bereich. Bei kürzerer (7,5 Stunden) oder längerer (24 Stunden) Vorbebrütung zeigten die wenigen auswertbaren Zellen niedrigere Werte (Abb. 6).

### 3.4.b. Bewegung bei veränderten Wachstumsbedingungen

Die Versuche mit unterschiedlichen Wachstumsbedingungen wurden jeweils nach 10 - 13 Stunden Vorbebrütung durchgeführt. Bei Zusatz von 0,1%iger Glucose zum Medium wurde eine geringe Abnahme der korrigierten Durchschnittsgeschwindigkeit (ca.  $2 \mu\text{m}/\text{min}$ ) gegenüber dem Kontrollversuch (ca.  $2,5 \mu\text{m}$ ) beobachtet (Tab. 2 und Abb. 7). Dieser Unterschied erwies sich im Rangtest als signifikant ( $2 \alpha \leq 0,02$ ). Der Ruhequotient war ebenfalls mit Glucose durchschnittlich größer als der Ruhequotient der ohne Glucose gemessenen Zellen ( $2 \alpha \leq 0,05$ ). Minimale und maximale Geschwindigkeiten wichen nicht auffällig voneinander ab (Tab. 2).

In einem weiteren Versuch wurde der Einfluß der Temperatur auf die Beweglichkeit geprüft. Bei höherer ( $38^{\circ}\text{C}$ ,  $39^{\circ}\text{C}$ ,  $40^{\circ}\text{C}$ ) oder tieferer ( $35^{\circ}\text{C}$ ) Umgebungstemperatur schien die korrigierte Durchschnittsgeschwindigkeit gegenüber dem Kontrollversuch geringer zu sein (Abb. 7). Der Ruhequotient zeigte dagegen keine auffälligen Veränderungen (Tab. 3). Für eine statistische Auswertung war jedoch die Zahl der beobachteten Zellen zu gering. Bei veränderten

$p_H$ -Werten waren weder die korrigierten Durchschnittsgeschwindigkeiten (Abb. 7) noch die Ruhequotienten (Tab. 4) auffällig.

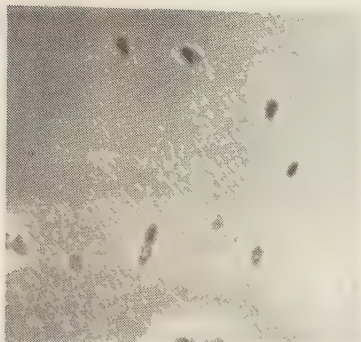


Abb. 2a

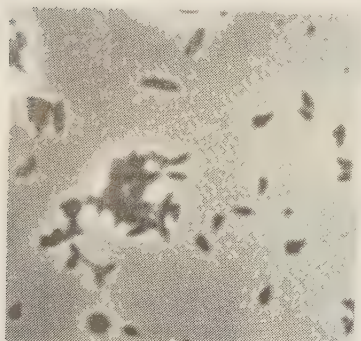
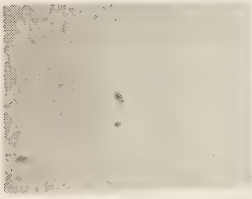
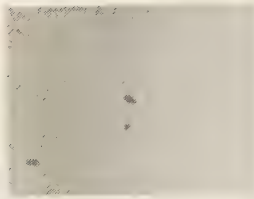


Abb. 2b

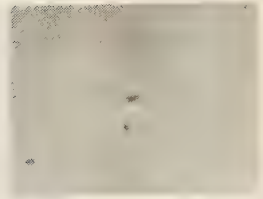
Abb. 2 Zellen von M.gallisepticum am Glas der Beobachtungs-  
kammer. Medium mit 3% Gelatine.  
Phasenkontrast, Vergrößerung 2000-fach.



a = 0



b = 13



c = 28



d = 43



e = 61



f = 76



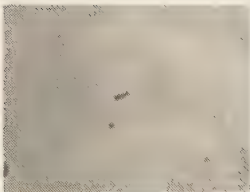
g = 116



h = 131



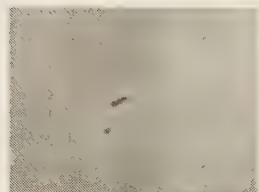
i = 141



k = 146



l = 166



m = 191

Abb. 3 Beobachtung einer *M.gallisepticum* - Zelle über 6:36 Stunden.  
Zeitangaben in Minuten nach Beginn der Beobachtung.



n = 211



o = 228



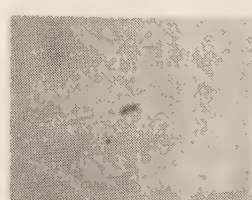
p = 246



q = 291



r = 301



s = 336



t = 361



u = 381



v = 396

Abb. 3 Beobachtung einer *M.gallisepticum* - Zelle über 6:36 Stunden. Phasenkontrast, Vergrößerung 2000-fach. Medium mit 3% Gelatine. Abstand der Aufnahmen vom Zeitpunkt 0 in Minuten (a = 0; b = 13; ...).

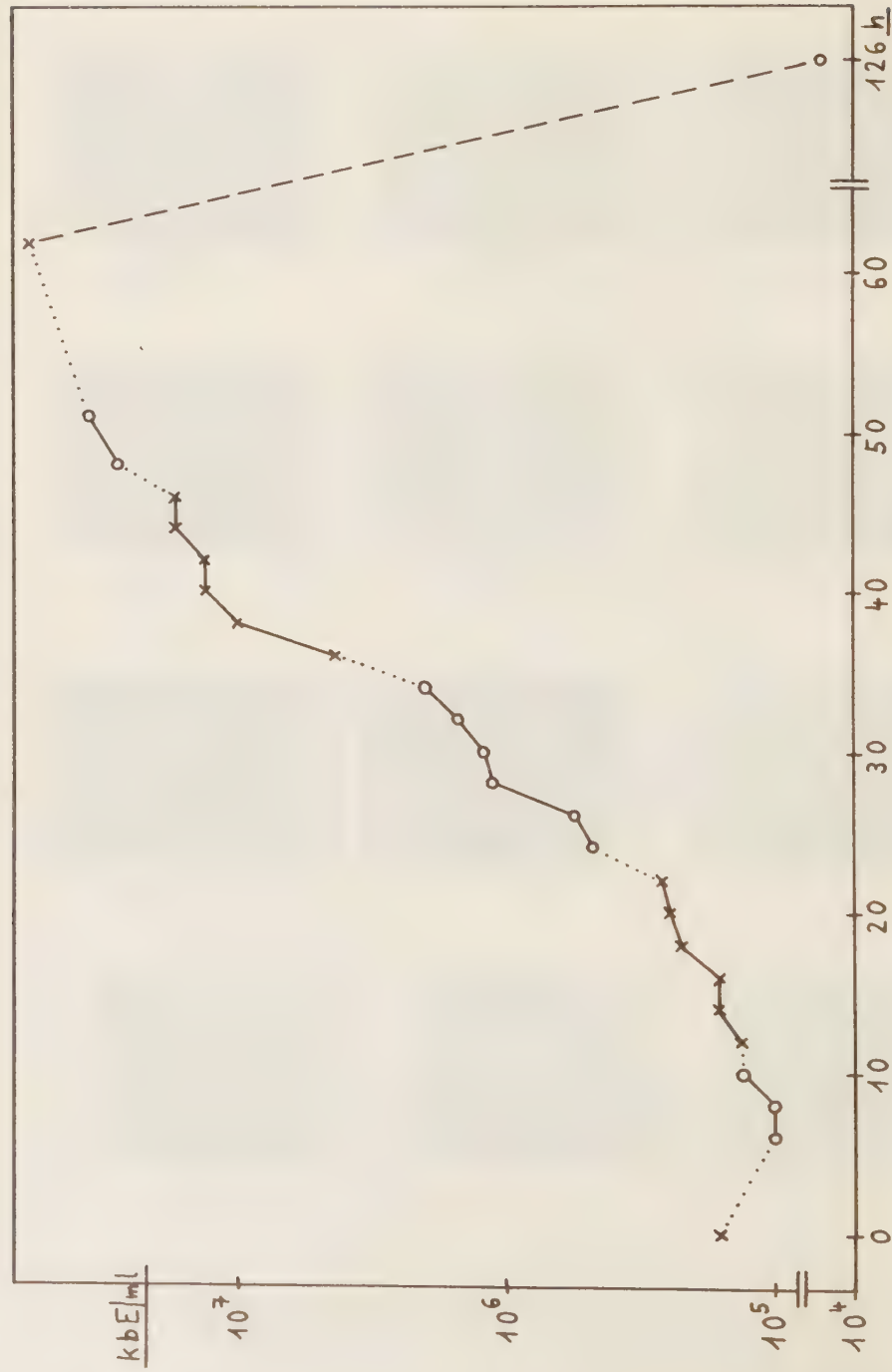


Abb. 1 Vermehrung von *Mycoplasma gallisepticum* in flüssigem Medium. Proben wurden abwechselnd aus 2 gleichartigen, aber zeitlich versetzt beimpften Kulturen entnommen (o und x).

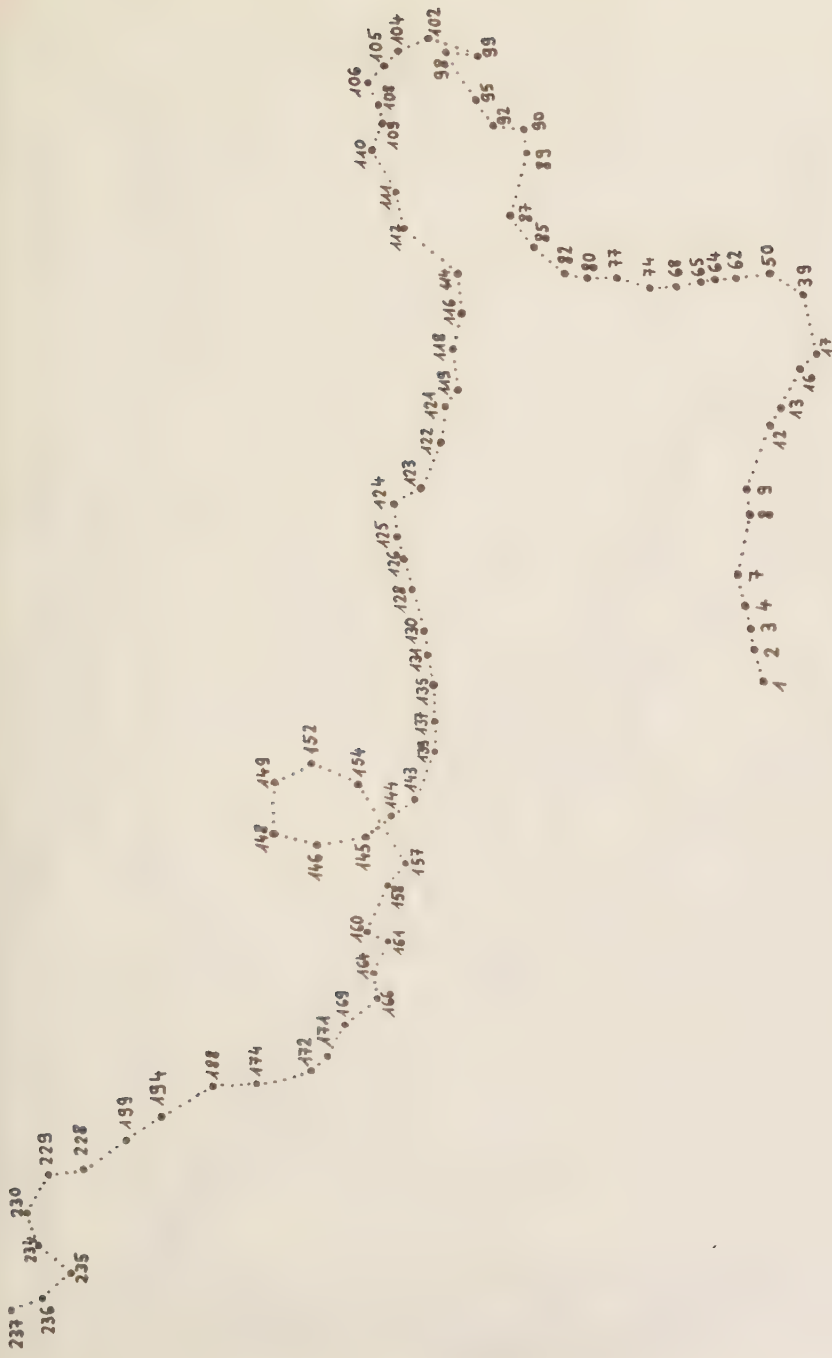


Abb. 4 Beispiel für den Weg einer *M. gallisepticum* - Zelle. Gesamtstrecke 48,8  $\mu\text{m}$ , Dauer der Fortbewegung 59 min 15 sec, 1 cm entspricht 0,85  $\mu\text{m}$ . Medium mit 1% Gelatine und 0,1% Glucose.

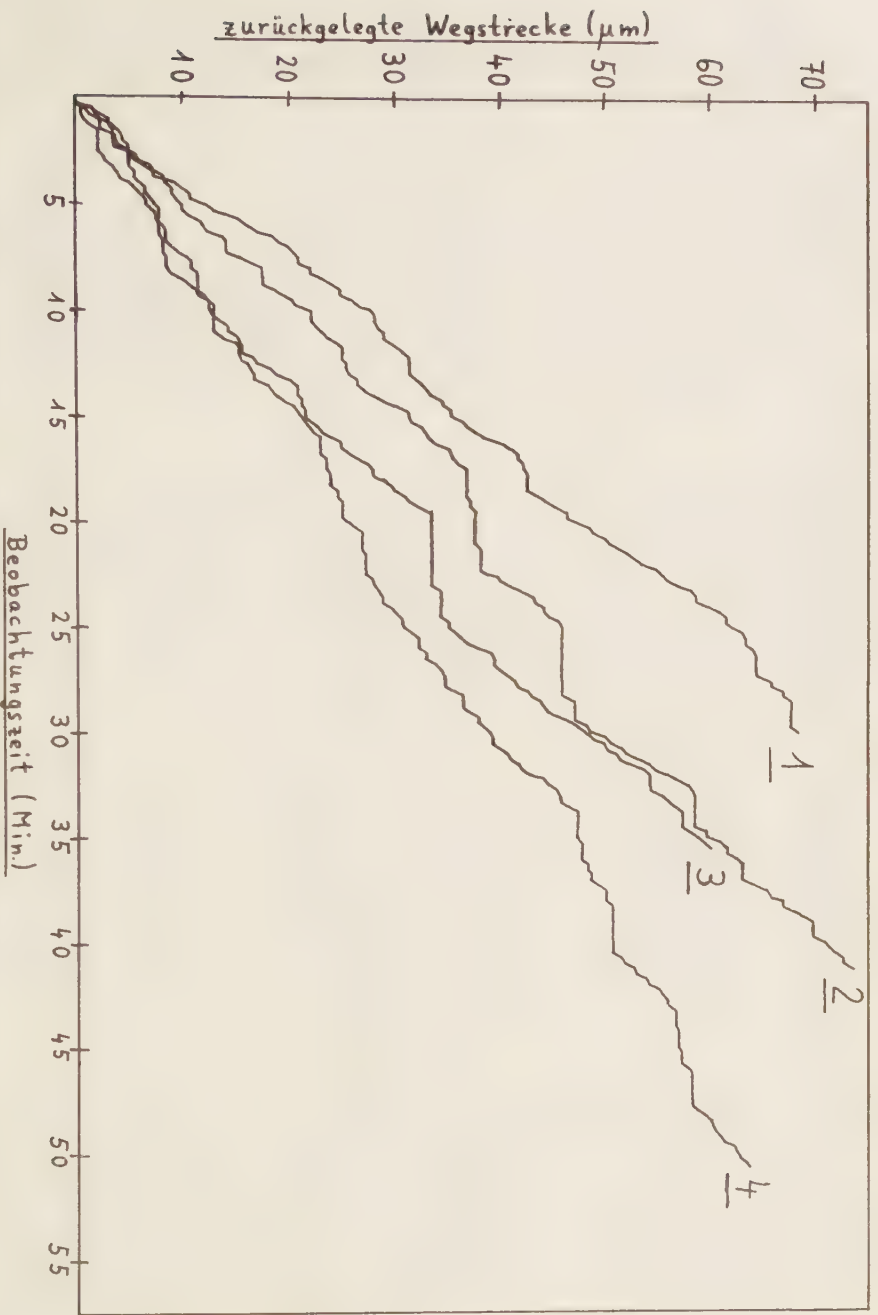


Abb. 5    Bewegungsverhalten von 4 *M. gallisepticum* - Zellen unter Normalbedingungen. 4 Meßpunkte pro Minute. Medium mit 1% Gelatine,  $P_H$  7,2,  $37^{\circ}C$ .

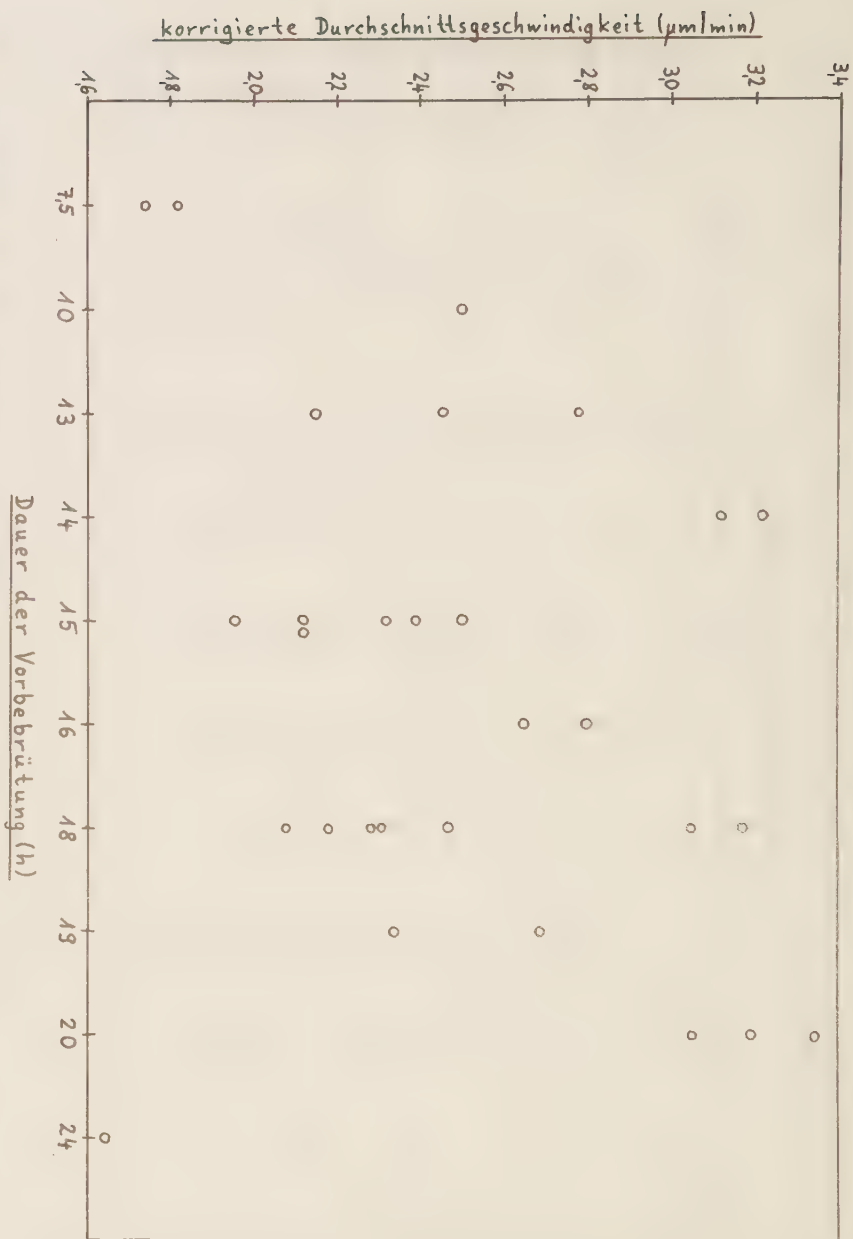


Abb. 6 Beziehungen zwischen korrigierter Durchschnittsgeschwindigkeit und Dauer der Vorbeirtung. Ein Punkt stellt jeweils eine Zelle dar.

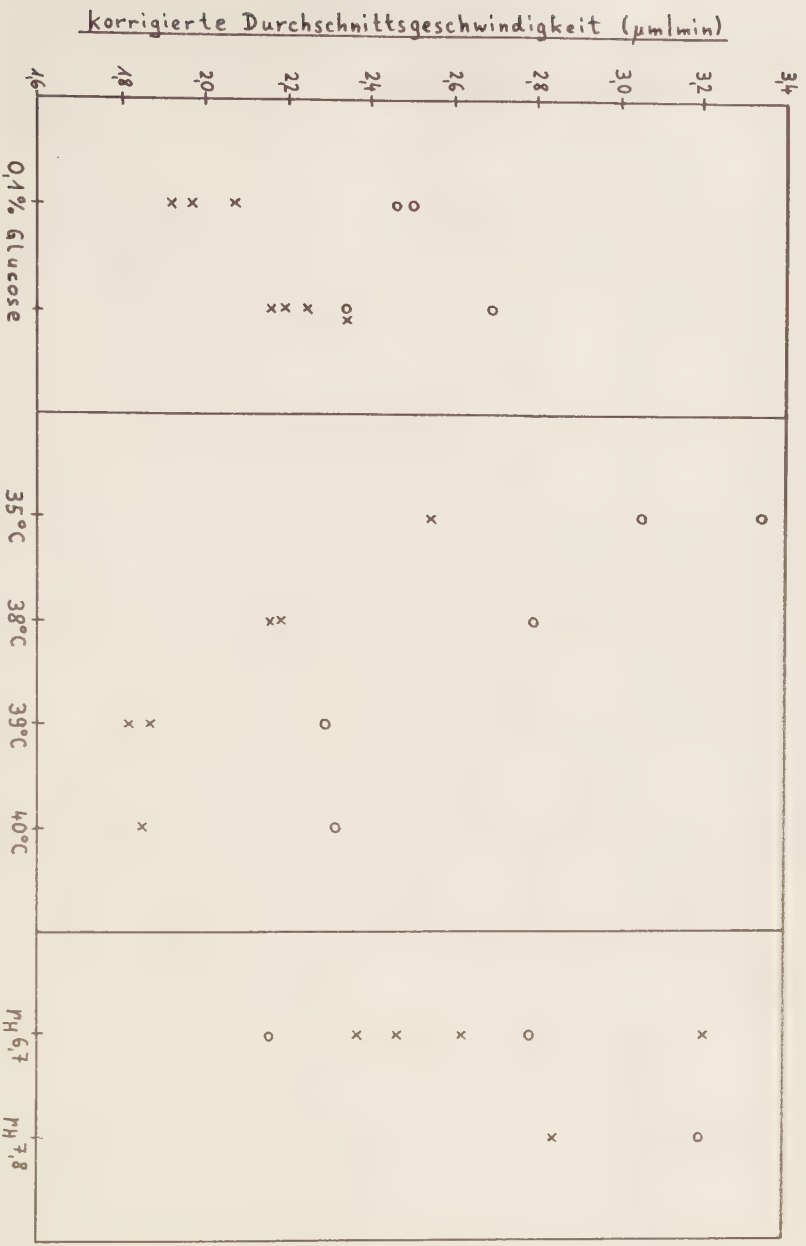


Abb. 7 Korrigierte Durchschnittsgeschwindigkeit unter verschiedenen Versuchsbedingungen. Kontrollzellen (o) jeweils in normalem Medium (ohne Glucose,  $p_H$  7,2, 37°C), Versuchszellen (x) jeweils bei den angegebenen Bedingungen.

| Gesamtstrecke<br><br>$\mu\text{m}$ | Beobachtungs-<br>dauer insges.<br><br>Min. | Durchschnittsgeschw.                       |                                             | Geschwindigkeit<br>min.<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | max.<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | Zeit mit Zeit in<br>Bewegung Ruhe |       | Anteil der<br>Ruhezeit an<br>Gesamtdauer<br>% |
|------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|-----------------------------------------------|
|                                    |                                            | mit<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | ohne<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ |                                                      |                                   | Min.                              | Min.  |                                               |
| <u>Vorinkubation 7,5h</u>          |                                            |                                            |                                             |                                                      |                                   |                                   |       |                                               |
| 4,10                               | 6:45                                       | 0,61                                       | 1,82                                        | 1,03                                                 | 2,73                              | 2:15                              | 4:30  | 67                                            |
| 14,78                              | 26                                         | 0,57                                       | 1,74                                        | 1,03                                                 | 2,75                              | 6:30                              | 17:30 | 67                                            |
| <u>Vorinkubation 10h</u>           |                                            |                                            |                                             |                                                      |                                   |                                   |       |                                               |
| 10,00                              | 8:45                                       | 1,14                                       | 2,50                                        | 1,71                                                 | 4,10                              | 4                                 | 4:45  | 54                                            |
| <u>Vorinkubation 13h</u>           |                                            |                                            |                                             |                                                      |                                   |                                   |       |                                               |
| 12,91                              | 26                                         | 0,48                                       | 2,15                                        | 1,37                                                 | 3,08                              | 6                                 | 20    | 77                                            |
| 9,74                               | 10:30                                      | 0,93                                       | 2,78                                        | 1,71                                                 | 5,47                              | 3:30                              | 7     | 67                                            |
| 25,21                              | 15:30                                      | 1,63                                       | 2,46                                        | 1,37                                                 | 4,10                              | 10:15                             | 5:15  | 34                                            |
| <u>Vorinkubation 14h</u>           |                                            |                                            |                                             |                                                      |                                   |                                   |       |                                               |
| 88,25                              | 47:30                                      | 1,86                                       | 3,12                                        | 1,03                                                 | 5,47                              | 28:15                             | 19:15 | 41                                            |
| 68,46                              | 30                                         | 2,28                                       | 3,22                                        | 1,03                                                 | 6,14                              | 21:15                             | 8:45  | 29                                            |

Tab. 1: Meßdaten der untersuchten M.gallisepticum - Zellen unter Normalbedingungen

(Medium mit 1% Gelatine,  $\text{pH}$  7,2,  $37^{\circ}\text{C}$ ) bei unterschiedlich langer Vorbebrütung.

| Gesamtstrecke<br><br>$\mu\text{m}$ | Beobachtungs-<br>dauer insges.<br><br>Min. | Durchschnittsgeschw.                       |                                             | Geschwindigkeit                       |                                       | Zeit mit Zeit in |                  | Anteil der<br>Ruhezeit an<br>Gesamtdauer<br>% |
|------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|------------------|------------------|-----------------------------------------------|
|                                    |                                            | mit<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | ohne<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | min.<br><br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | max.<br><br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | Bewegung         | Ruhe<br><br>Min. |                                               |
| <u>Vorinkubation 15h</u>           |                                            |                                            |                                             |                                       |                                       |                  |                  |                                               |
| 7,74                               | 11:45                                      | 0,63                                       | 2,12                                        | 1,37                                  | 3,42                                  | 3:30             | 8:15             | 70                                            |
| 18,55                              | 14:45                                      | 1,26                                       | 2,12                                        | 1,37                                  | 4,10                                  | 8:45             | 6                | 41                                            |
| 12,73                              | 15:30                                      | 0,82                                       | 1,96                                        | 1,37                                  | 3,08                                  | 6:30             | 9                | 58                                            |
| 5,38                               | 8:45                                       | 0,62                                       | 2,39                                        | 1,37                                  | 3,76                                  | 2:15             | 6:30             | 74                                            |
| 18,55                              | 23:30                                      | 0,79                                       | 2,32                                        | 1,37                                  | 3,76                                  | 8                | 15:30            | 66                                            |
| 13,16                              | 13                                         | 1,01                                       | 2,50                                        | 1,37                                  | 4,10                                  | 5:15             | 7:45             | 60                                            |
| <u>Vorinkubation 16h</u>           |                                            |                                            |                                             |                                       |                                       |                  |                  |                                               |
| 8,38                               | 11:30                                      | 0,73                                       | 2,80                                        | 1,71                                  | 4,79                                  | 3                | 8:30             | 74                                            |
| 15,90                              | 14:30                                      | 1,10                                       | 2,65                                        | 1,37                                  | 4,44                                  | 6                | 8:30             | 59                                            |
| <u>Vorinkubation 18h</u>           |                                            |                                            |                                             |                                       |                                       |                  |                  |                                               |
| 9,91                               | 10:15                                      | 0,97                                       | 3,05                                        | 1,71                                  | 5,47                                  | 3:15             | 7                | 68                                            |
| 9,83                               | 8:30                                       | 1,16                                       | 2,31                                        | 1,37                                  | 4,10                                  | 4:15             | 4:15             | 50                                            |

| Gesamtstrecke<br><br>$\mu\text{m}$ | Beobachtungs-<br>dauer insges.<br><br>Min. | Durchschnittsgeschw.                       |                                             | Geschwindigkeit                   |                                   | Zeit mit Zeit in |              | Anteil der<br>Ruhezeit an<br>Gesamtdauer<br>% |
|------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------|--------------|-----------------------------------------------|
|                                    |                                            | mit<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | ohne<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | min.<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | max.<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | Bewegung         | Ruhe<br>Min. |                                               |
| <u>Vorinkubation 18h</u>           |                                            |                                            |                                             |                                   |                                   |                  |              |                                               |
| 13,59                              | 19:45                                      | 0,69                                       | 2,47                                        | 1,37                              | 4,79                              | 5:30             | 14:15        | 72                                            |
| 11,96                              | 17                                         | 0,70                                       | 2,08                                        | 1,03                              | 4,44                              | 5:45             | 11:15        | 66                                            |
| 60,00                              | 35:30                                      | 1,69                                       | 3,17                                        | 0,68                              | 4,79                              | 22:15            | 13:15        | 37                                            |
| 63,69                              | 50:45                                      | 1,25                                       | 2,18                                        | 1,03                              | 4,44                              | 29:15            | 21:30        | 42                                            |
| 21,36                              | 25:15                                      | 0,85                                       | 2,29                                        | 1,03                              | 4,10                              | 9:45             | 15:30        | 61                                            |
| <u>Vorinkubation 19h</u>           |                                            |                                            |                                             |                                   |                                   |                  |              |                                               |
| 14,79                              | 6                                          | 2,46                                       | 2,69                                        | 1,37                              | 4,79                              | 5:30             | 0:30         | 8                                             |
| 17,52                              | 12:15                                      | 1,43                                       | 2,34                                        | 1,37                              | 4,10                              | 7:30             | 4:45         | 38                                            |
| <u>Vorinkubation 20h</u>           |                                            |                                            |                                             |                                   |                                   |                  |              |                                               |
| 30,94                              | 26                                         | 1,29                                       | 3,34                                        | 1,37                              | 6,49                              | 9:15             | 14:45        | 61                                            |
| 9,91                               | 15                                         | 0,67                                       | 3,05                                        | 1,37                              | 8,89                              | 3:15             | 11:45        | 78                                            |

| Gesamstrecke<br><br>$\mu\text{m}$ | Beobachtungs-<br>dauer insges.<br><br>Min. | Durchschnittsgeschw.                       |                                             | Geschwindigkeit                   |                                   | Zeit mit Zeit in<br>Bewegung Ruhe |       | Anteil der<br>Ruhezeit an<br>Gesamtdauer<br>% |
|-----------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|-----------------------------------------------|
|                                   |                                            | mit<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | ohne<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | min.<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | max.<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | Min.                              | Min.  |                                               |
|                                   |                                            |                                            |                                             |                                   |                                   |                                   |       |                                               |
| <u>Vorinkubation 20h</u>          |                                            |                                            |                                             |                                   |                                   |                                   |       |                                               |
| 19,14                             | 24:15                                      | 0,79                                       | 3,19                                        | 1,37                              | 8,20                              | 6                                 | 18:15 | 75                                            |
| <u>Vorinkubation 24h</u>          |                                            |                                            |                                             |                                   |                                   |                                   |       |                                               |
| 4,10                              | 7:30                                       | 0,55                                       | 1,64                                        | 1,03                              | 2,05                              | 2:30                              | 5     | 67                                            |

| Gesamtstrecke<br><br>$\mu\text{m}$ | Beobachtungs-<br>dauer insges.<br><br>Min. | Durchschnittsgeschw.                       |                                             | Geschwindigkeit                   |                                   | Zeit mit Zeit in |              | Anteil der<br>Ruhezeit an<br>Gesamtdauer<br>% |
|------------------------------------|--------------------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|------------------|--------------|-----------------------------------------------|
|                                    |                                            | mit<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | ohne<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | min.<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | max.<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | Bewegung<br>Min. | Ruhe<br>Min. |                                               |
| 0,1% Glucose                       |                                            |                                            |                                             |                                   |                                   |                  |              |                                               |
| 10,34                              | 25:15                                      | 0,41                                       | 1,97                                        | 1,03                              | 3,42                              | 5:15             | 20           | 79                                            |
| 3,85                               | 10:15                                      | 0,38                                       | 1,92                                        | 1,37                              | 2,73                              | 2                | 8:15         | 80                                            |
| 8,29                               | 17:30                                      | 0,47                                       | 2,07                                        | 1,03                              | 2,73                              | 4                | 13:30        | 77                                            |
| Kontrolle zu 0,1% Glucose          |                                            |                                            |                                             |                                   |                                   |                  |              |                                               |
| 10,00                              | 8:45                                       | 1,14                                       | 2,50                                        | 1,71                              | 4,10                              | 4                | 4:45         | 54                                            |
| 25,21                              | 15:30                                      | 1,63                                       | 2,46                                        | 1,37                              | 4,10                              | 10:15            | 5:15         | 34                                            |
| 0,1% Glucose                       |                                            |                                            |                                             |                                   |                                   |                  |              |                                               |
| 21,02                              | 17:15                                      | 1,22                                       | 2,34                                        | 1,37                              | 4,79                              | 9                | 8:15         | 44                                            |
| 11,88                              | 16                                         | 0,74                                       | 2,16                                        | 1,37                              | 4,10                              | 5:30             | 10:30        | 66                                            |
| 48,78                              | 59:15                                      | 0,82                                       | 2,24                                        | 1,03                              | 5,81                              | 21:45            | 37:30        | 63                                            |

Tab. 2: Meßdaten der untersuchten M. gallisepticum - Zellen bei Glucosezusatz.

| Gesamtstrecke             | Beobachtungs-<br>dauer insges. | Durchschnittsgeschw.                       |                                             | Geschwindigkeit                       |                                       | Zeit mit Zeit in<br>Bewegung Ruhe |       | Anteil der<br>Ruhezeit an<br>Gesamtdauer<br>% |
|---------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|-------|-----------------------------------------------|
|                           |                                | mit<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | ohne<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | min.<br><br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | max.<br><br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | Min.                              | Min.  |                                               |
| 0,1% Glucose              |                                |                                            |                                             |                                       |                                       |                                   |       |                                               |
| 39,74                     | 52                             | 0,76                                       | 2,19                                        | 1,03                                  | 4,79                                  | 18:30                             | 33:30 | 64                                            |
| Kontrolle zu 0,1% Glucose |                                |                                            |                                             |                                       |                                       |                                   |       |                                               |
| 17,52                     | 12:15                          | 1,43                                       | 2,34                                        | 1,37                                  | 4,10                                  | 7:30                              | 4:45  | 39                                            |
| 14,79                     | 6                              | 2,46                                       | 2,69                                        | 1,37                                  | 4,79                                  | 5:30                              | 0:30  | 8                                             |

| Gesamtstrecke     | Beobachtungs-<br>dauer insges. | Durchschnittsgeschw.                       |                                             | Geschwindigkeit                   |                                   | Zeit mit Zeit in<br>Bewegung Ruhe |       | Anteil der<br>Ruhezeit an<br>Gesamtdauer |
|-------------------|--------------------------------|--------------------------------------------|---------------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------|------------------------------------------|
| $\mu\text{m}$     | Min.                           | mit<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | ohne<br>Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | min.<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | max.<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | Min.                              | Min.  | %                                        |
| bei 38°C          |                                |                                            |                                             |                                   |                                   |                                   |       |                                          |
| 20,68             | 22:15                          | 0,93                                       | 2,18                                        | 1,37                              | 4,10                              | 9:30                              | 12:45 | 57                                       |
| 11,88             | 19                             | 0,63                                       | 2,16                                        | 1,37                              | 4,10                              | 5:30                              | 13:30 | 71                                       |
| Kontrolle zu 38°C |                                |                                            |                                             |                                   |                                   |                                   |       |                                          |
| 8,38              | 11:30                          | 0,73                                       | 2,79                                        | 1,71                              | 4,79                              | 3                                 | 8:30  | 74                                       |
| bei 39°C          |                                |                                            |                                             |                                   |                                   |                                   |       |                                          |
| 14,96             | 13                             | 1,15                                       | 1,87                                        | 1,03                              | 3,08                              | 8                                 | 5     | 38                                       |
| 10,94             | 11:15                          | 0,88                                       | 1,82                                        | 1,37                              | 3,42                              | 6                                 | 5:15  | 47                                       |
| Kontrolle zu 39°C |                                |                                            |                                             |                                   |                                   |                                   |       |                                          |
| 21,36             | 25:15                          | 0,85                                       | 2,29                                        | 1,03                              | 4,10                              | 9:45                              | 15:30 | 61                                       |
| bei 40°C          |                                |                                            |                                             |                                   |                                   |                                   |       |                                          |
| 5,56              | 7:45                           | 0,72                                       | 1,85                                        | 1,37                              | 2,73                              | 3                                 | 4:45  | 61                                       |

Tab. 3: Meßdaten der untersuchten M.gallisepticum - Zellen bei den Temperaturversuchen.

| Gesamtstrecke<br>$\mu\text{m}$    | Beobachtungs-<br>dauer insges.<br>Min. | Durchschnittsgeschw.<br>mit Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | ohne Pausen<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | Geschwindigkeit<br>min. max.<br>$\mu\text{m}/\text{Min.}$ | Zeit mit Zeit in<br>Bewegung Ruhe<br>Min. Min. | Anteil der<br>Ruhezeit an<br>Gesamtdauer<br>% |
|-----------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Kontrolle zu $40^{\circ}\text{C}$ |                                        |                                                                 |                                          |                                                           |                                                |                                               |
| 9,83                              | 8:30                                   | 1,16                                                            | 2,31                                     | 1,37 4,10                                                 | 4:15 4:15                                      | 50                                            |
| bei $35^{\circ}\text{C}$          |                                        |                                                                 |                                          |                                                           |                                                |                                               |
| 20,34                             | 38:30                                  | 0,53                                                            | 2,54                                     | 1,37 5,13                                                 | 8 30:30                                        | 79                                            |
| Kontrolle zu $35^{\circ}\text{C}$ |                                        |                                                                 |                                          |                                                           |                                                |                                               |
| 30,94                             | 24                                     | 1,29                                                            | 3,34                                     | 1,37 6,49                                                 | 9:15 14:45                                     | 61                                            |
| 9,91                              | 15                                     | 0,66                                                            | 3,05                                     | 1,37 8,89                                                 | 3:15 11:45                                     | 78                                            |
| Profilversuch nach 18h            |                                        |                                                                 |                                          |                                                           |                                                |                                               |
| 9,91                              | 10:15                                  | 0,97                                                            | 3,05                                     | 1,71 5,47                                                 | 3:15 7                                         | 68                                            |
| Profilversuch nach 24h            |                                        |                                                                 |                                          |                                                           |                                                |                                               |
| 4,10                              | 7:30                                   | 0,55                                                            | 1,64                                     | 1,03 2,05                                                 | 2:30 5                                         | 67                                            |

| Gesamtstrecke            | Beobachtungs-<br>dauer insges. | Durchschnittsgeschw.      |                           | Geschwindigkeit           |                           | Zeit mit Zeit in |       | Anteil der                 |
|--------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------|-------|----------------------------|
| $\mu\text{m}$            | Min.                           | mit<br>Pausen             | ohne<br>Pausen            | min.                      | max.                      | Bewegung         | Ruhe  | Ruhezeit an<br>Gesamtdauer |
|                          |                                | $\mu\text{m}/\text{Min.}$ | $\mu\text{m}/\text{Min.}$ | $\mu\text{m}/\text{Min.}$ | $\mu\text{m}/\text{Min.}$ | Min.             | Min.  | %                          |
| $p_H = 6,7$              |                                |                           |                           |                           |                           |                  |       |                            |
| 15,38                    | 40:30                          | 0,38                      | 2,37                      | 1,03                      | 4,79                      | 6:30             | 24    | 84                         |
| 15,04                    | 18                             | 0,84                      | 2,62                      | 1,03                      | 4,79                      | 5:45             | 12:15 | 68                         |
| 6,75                     | 7:15                           | 0,93                      | 2,46                      | 1,37                      | 4,10                      | 2:45             | 4:30  | 62                         |
| 11,20                    | 33:15                          | 0,34                      | 3,20                      | 1,71                      | 4,79                      | 3:30             | 29:45 | 89                         |
| Kontrolle zu $p_H = 6,7$ |                                |                           |                           |                           |                           |                  |       |                            |
| 12,91                    | 26                             | 0,48                      | 2,15                      | 1,37                      | 3,08                      | 6                | 20    | 77                         |
| 9,74                     | 10:30                          | 0,93                      | 2,78                      | 1,71                      | 5,47                      | 3:30             | 7     | 67                         |
| $p_H = 7,8$              |                                |                           |                           |                           |                           |                  |       |                            |
| 9,23                     | 6                              | 1,54                      | 2,84                      | 1,03                      | 6,15                      | 3:15             | 2:45  | 46                         |
| Kontrolle zu $p_H = 7,8$ |                                |                           |                           |                           |                           |                  |       |                            |
| 19,14                    | 24:15                          | 0,79                      | 3,19                      | 1,37                      | 8,20                      | 6                | 18:15 | 75                         |

Tab. 4: Meßdaten der untersuchten M.gallisepticum – Zellen bei den  $p_H$  – Versuchen.

#### 4. Diskussion

##### 4.1. Morphologie

Seit der ersten Isolierung von M.gallisepticum durch MARKHAM und WONG (1952) war diese Spezies Gegenstand zahlreicher Untersuchungen. Die meisten morphologischen Studien wurden mit Hilfe des Elektronenmikroskopes durchgeführt (MANILOFF and MOROWITZ 1972), lichtmikroskopische Daten lagen dagegen kaum vor (RAZIN et al. 1967). Die bei den eigenen Untersuchungen beobachteten Formen lebender Zellen entsprechen den elektronenmikroskopischen Befunden. Daraus kann geschlossen werden, daß die in diesen früheren Studien verwendete Fixationsmethode (Fixierung vor dem Zentrifugieren) in der Lage ist, die tatsächliche Zellform zu erhalten. Die meisten untersuchten Zellen zeigten die typische Birnen- oder Tropfenform, die von anderen Autoren beschriebenen Fäden (RAZIN et al. 1967) waren nicht festzustellen. M.gallisepticum scheint demnach in einem geeigneten flüssigen Medium überwiegend in Einzelzellen mit typischer Form zu wachsen. Eine Pleomorphie, wie sie bei anderen Mycoplasma-Arten beobachtet werden konnte (BREDD 1970a), liegt offenbar unter den geprüften Bedingungen nicht vor.

##### 4.2. Vermehrung

Bei kontinuierlicher Beobachtung unter dem Lichtmikroskop zeigten sich im Prinzip die gleichen Vorgänge, wie sie aus elektronenmikroskopischen

Sequenzen gefolgt worden waren. Die Zellen verlängerten sich und trennten sich schließlich durch Abschnürung in zwei Tochterzellen. Abweichende Vorgänge wurden nicht beobachtet.

Die Teilungszeiten lagen um 150 Minuten oder höher und entsprechen damit nur teilweise den Angaben von MANILOFF und MOROWITZ (1967). Besonders bei ständiger Beobachtung hatte man den Eindruck, als verzögerten sich die Teilung und die Bewegung. Hierbei mögen Intensität und Dauer der Lichteinwirkung eine Rolle gespielt haben. Bei den cinematographischen Untersuchungen war die Lichteinwirkung insgesamt wesentlich geringer. Bei den Filmaufnahmen konnte häufig beobachtet werden, daß sich die Tochterzellen nach der Teilung sofort auseinanderbewegten.

#### 4.3. Bewegung

Die Bewegungsart von M.gallisepticum ist ein Gleiten an der Glasoberfläche, sie gleicht damit der Fortbewegung von M.pneumoniae und M.pulmonis (BREDDT 1973). Die Zellen bewegen sich stets in Richtung ihrer Spitzenstruktur. Offensichtlich ist diese Spitze auch diejenige Stelle des Zellkörpers, die am stärksten am Glas haftet. Ähnliches ist auch bei M.pneumoniae beobachtet worden (BREDDT 1973). Die Fortbewegung von M.gallisepticum - Zellen ist nicht gerichtet, sondern erfolgt wie bei M.pneumoniae in irregulären Mustern. Im Unterschied zu den beiden anderen beweglichen Mycoplasma - Arten ist M.gallisepticum äußerst langsam. Während für M.pneumoniae

Geschwindigkeiten bis zu  $0,75 \mu\text{m}/\text{sec}$  (BREDT et al. 1970b) und mehr beobachtet wurden, erreichte M.gallisepticum in den vorliegenden Untersuchungen nur maximal  $0,15 \mu\text{m}/\text{sec}$ . Die Durchschnittsgeschwindigkeiten (ohne Pausen) von M.gallisepticum lagen meist um  $0,03 \mu\text{m}/\text{sec}$  und betragen damit nur etwa ein Zehntel der entsprechenden Werte von M.pneumoniae. Auch der Prozentsatz der Ruhephasen liegt bei M.gallisepticum höher. Im übrigen war das Verhalten der untersuchten Zellen unter Normalbedingungen relativ einheitlich.

Die Bewegung der M.gallisepticum - Zellen scheint in der logarithmischen Wachstumsphase besonders deutlich zu sein. Ob die Beweglichkeit hier mit der erhöhten Teilungsaktivität zusammenhängt, kann aus den vorliegenden Daten weder gefolgert noch ausgeschlossen werden. Auch eine "Konditionierung" des Mediums durch bestimmte Stoffwechselprodukte erscheint möglich.

Die Einflüsse äußerer Faktoren sind aufgrund der geringen Zahl auswertbarer Zellen nur bedingt beurteilbar.  $p_{\text{H}}$  - Veränderungen scheinen keinen deutlichen Effekt auszuüben, dagegen ist die Bewegung offenbar temperaturabhängig. Die Zugabe von Glucose, einer durch M.gallisepticum metabolisierten Substanz, hatte erstaunlicherweise keine vermehrte, sondern eine verminderte Beweglichkeit zur Folge. Das deckt sich mit ähnlichen Beobachtungen an M.pneumoniae (RADESTOCK, Dissertation in Vorbereitung).

Die Fortbewegung von M.gallisepticum erweist sich damit im Prinzip als gleichartig mit der Bewegung von M.pneumoniae und M.pulmonis.

In allen Fällen spielt offenbar die Spitzenstruktur eine entscheidende Rolle. Die bisherigen elektronenmikroskopischen und biochemischen Daten geben jedoch keine wesentlichen Aufschlüsse über die zugrundeliegenden Mechanismen in Cytoplasma und Zellmembran. Lediglich die Konzentration der ATP-ase in der Spitze von M.gallisepticum (MUNKRES und WACHTEL 1967) sind ein Hinweis auf verstärkten Energiebedarf in diesem Zellteil.

Der Grund der relativ geringen Geschwindigkeit bei M.gallisepticum ist nicht bekannt. Es muß offenbleiben, ob hier die verwendeten Nährbodenbedingungen einen hemmenden Einfluß ausgeübt haben.

Die biologische Bedeutung der gleitenden Beweglichkeit von Mycoplasmen ist vorerst unbekannt. Alle drei bisher beobachteten beweglichen Arten sind Erreger respiratorischer Erkrankungen. Sie müssen daher die Fähigkeit besitzen, an einem Flimmerepithel zu haften und dort bis zur Zelloberfläche vorzudringen. Dabei muß jeweils die vorhandene Schicht von Schleimsubstanzen überwunden werden. Es ist denkbar, daß die Fähigkeit zu gleitender Bewegung den Mycoplasmen dieses Vordringen zur Oberfläche des respiratorischen Epithels erleichtert.

Danksagung

Herrn Prof. Dr. W. BREDT danke ich für die Überlassung des  
Themas, Einweisung in das Fragengebiet und Bereitstellung  
eines Arbeitsplatzes.

Den Mitarbeitern des Labors Prof. Dr. W. BREDT danke ich  
für die freundliche Aufnahme in ihren Arbeitskreis und das  
angenehme Arbeitsklima.

## LITERATURVERZEICHNIS

ANDREWES, C.H. and F.V. WELCH. 1946.

A motile organism of the pleuropneumonia group.

J. Pathol. Bacteriol. 58, 578-580.

BIBERFELD, G. und P. BIBERFELD. 1970.

Ultrastructural features of Mycoplasma pneumoniae .

J. Bacteriol. 102 , 855-861.

BREDT, W. 1968 a.

Growth morphology of Mycoplasma pneumoniae strain FH  
on glass surface.

Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 128 , 338-340.

BREDT, W. 1968 b.

Motility and multiplication of Mycoplasma pneumoniae .

Pathol. Mikrobiol. 32 , 321-326.

BREDT, W. 1970 a.

Experimentelle Untersuchungen über Morphologie und Vermehrung der beim Menschen vorkommenden Mycoplasmen unter besonderer Berücksichtigung von Mycoplasma hominis .

Z. Med. Mikrobiol. Immunol. 155 , 248-274.

BREDT, W., K.H. HÖFLING, H.H. HEUNERT und B. MILTHALER. 1970 b.

Messungen an beweglichen Zellen von Mycoplasma pneumoniae .

Z. Med. Mikrobiol. Immunol. 156 , 39-43.

BREDT, W. 1972.

Phase contrast studies on living mycoplasmas.

Med. Mikrobiol. Immunol. 157, 169-180 (abstr.).

BREDT, W. 1973.

Motility of mycoplasmas.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 225, 246-250.

BREDT, W. 1974.

Structure and motility. In: J.M. BOVE and J.F. DUPLAN (ed.).

Mycoplasmas of man, animals, plants and insects. p. 47-52.

INSERM. Paris 1974.

FREUNDT, E.A. 1969.

Cellular morphology and mode of replication of the mycoplasmas.

In: L. HAYFLICK (ed.). The mycoplasmatales and the

L-phase of bacteria. p. 281-316. North-Holland Publishing

Company - Amsterdam 1969.

HAYFLICK, L. 1965 a.

Tissue cultures and mycoplasmas.

Tex. Rep. Biol. Med. 23 (Suppl. 1), 285-303.

HAYFLICK, L. and R.M. CHANOCK. 1965 b.

Mycoplasma species of man.

Bact. Rev. 29, 185-221.

MANILOFF, J., H.J. MOROWITZ and R.J. BARNETT. 1965.

Ultrastructure and ribosomes of Mycoplasma gallisepticum.

J. Bacteriol. 90, 193-204.

MANILOFF, J. and H.J. MOROWITZ. 1967.

Ultrastructure and life cycle of Mycoplasma gallisepticum

A 5969.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 143, 59-65.

MANILOFF, J. and H.J. MOROWITZ. 1972.

Cell biology of the Mycoplasmas.

Bact. Rev. 36, 263-290.

MARKHAM, F.S. and S.C. WONG. 1952.

Pleuropneumonia - Like organisms in the etiology of turkey

sinusitis and chronic respiratory disease of chickens.

Poultry Sci. 31, 902-904.

MUNKRES, M. and A. WACHTEL. 1967.

Histochemical localization of phosphatases in Mycoplasma gallisepticum.

J. Bacteriol. 93, 1096-1103.

NELSON, J.B. 1960.

The behaviour of murine PPLO in HeLa cell cultures.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 79, 450-457.

NELSON, J.B. and M.J. LYONS. 1965.

Phase - contrast and electron microscopy of murine strains of mycoplasma.

J. Bacteriol. 90, 1750-1763.

RAZIN, S., B.J. COSENZA and M.E. TOURTELLOTTE. 1967.

Filamentous growth of mycoplasma.

Ann. N.Y. Acad. Sci. 143, 66-72.

RAZIN, S. 1969.

The mycoplasma membrane. In: L. HAYFLICK (ed.).

The mycoplasmales and the L-phase of bacteria.

Appleton - Century - Crofts. New York 1969.

SHARP, J.T. (ed.). 1970.

The role of mycoplasma and L forms of bacteria in disease.

Charles C Thomas Publ., Springfield/Ill.

### Lebenslauf

Am 14.6.1948 wurde ich, Joen Tjin LIAUW (Tina MULIAWAN - indonesischer Name ab 1968), als zweites Kind des Kaufmanns Boen Hoa LIAUW (Mansoer MULIAWAN) und seiner Ehefrau Tie En LIOE in Palembang/Indonesien geboren. Im Jahr 1949 zogen meine Eltern nach Jakarta/Indonesien, wo ich meine Kindheit und Jugend verbrachte und meine Schulausbildung erhielt. 1954-1960 besuchte ich die Volksschule, 1960-1963 die Mittelschule und 1963-1966 die Oberschule. Am 1.1.1966 bestand ich das Abitur und entschloß mich, in Deutschland Medizin zu studieren.

Am 1.5.1967 kam ich nach Deutschland und nahm zunächst an einem Sprachkurs in Freiburg teil. Während des Wintersemesters 1967/68 und des Sommersemesters 1968 erwarb ich am Studienkolleg der Universität Mainz meine Berechtigung zum Studium an der Universität Mainz. Im Wintersemester 1968 begann ich mit dem Medizinstudium an der Universität Mainz, wo ich meine gesamte Studienzeit verbrachte. Ich bestand am 8.10.1969 das Vorphysikum, am 30.3.1972 das Physikum und am 20.6.1974 das Staatsexamen.

Mit meiner Doktorarbeit begann ich im Wintersemester 1973 bei Prof.Dr.W.BREDT am Institut für medizinische Mikrobiologie Mainz, wo ich auch als Medizinalassistentin vom 1.8.1974 - 30.11.1974 arbeitete. Seit 1.12.1974 arbeitete ich als Medizinalassistentin im Krankenhaus von Sankt Goar, zunächst auf der chirurgischen, dann auf der inneren Abteilung. Am 9.1.1976 heiratete ich Dr.Klaus ERDMANN und heiße seitdem Tina ERDMANN. Ich beabsichtige, eine Facharztausbildung für Innere Medizin anzuschließen.





